

EXHIBIT E

— 論 文 —

(日本化学会誌, 1988, (9), p. 1565~1570)

© 1988 The Chemical Society of Japan

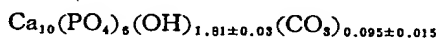
ヒドロキシアパタイト超微細結晶の水熱合成

(1987年12月17日受理)

井奥 洪二*・吉村 昌弘・宗宮 重行

湿式合成したヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 以下, HAp と略記する) を水熱処理することにより, HAp 超微粒子を得た。200°C, 2 MPa, 10 時間の条件で水熱合成した HAp は, 六角柱状の約 25 nm×90 nm の大きさをもつ微結晶であった。

この HAp 微結晶の化学分析, 赤外吸収スペクトルおよび粉末 X 線回折などの測定から, HAp 中の OH^- サイトにはごく微量の炭酸根が含まれ, 組成式では



として与えられることがわかった。

1 緒 言

ヒドロキシアパタイト $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (以下, HAp と略記する) は歯や骨の主成分であり, 生体との親和性が非常に良好であることから, 歯根や骨置換材などの生体材料としての利用が盛んに検討されている¹⁾。HAp 粉体は焼結体の原料となるばかりでなく, そのまま骨充填材としても利用できるため, その合成法については数多くの報告がある。HAp のおもな合成法としては乾式法^{2,3)}, 湿式法^{4,5)}, 水熱法⁶⁻¹⁰⁾などが知られている。

乾式合成 HAp は, カルシウムとリンの比 (Ca/P 比) を化学量論比の 1.67 とすることができ, 固相反応であるため生成物が不定形の凝集粒子として得られることが多い。また, 湿式合成 HAp は比表面積の大きな微粉体として得られるが, Ca/P 比は必ずしも理論比の 1.67 でなく, 一般にカルシウム欠損 HAp と呼ばれる $\text{Ca/P} < 1.67$ と成りやすい¹¹⁾。一方, 水熱合成 HAp は Ca/P 比が化学量論の, 大きな単結晶として得られることが知ら

れているが, 水熱法で均一な HAp 超微細結晶を合成したという報告は多くない。

著者らは, 湿式法による HAp をオートクレーブ中でかきまぜながら水熱処理し, HAp の超微細結晶を得るプロセスを検討している。本研究では, 合成条件と HAp の性状との関係を調べた。さらにこの HAp 超微細結晶の加熱変化を調べることで, HAp 中に含まれる CO_3^{2-} についても検討した。

2 実 験

2.1 試料の調製

HAp は Ca と P とが化学量論比となるよう $0.167 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ の $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (和光純薬工業, 試薬特級) 水溶液に $0.1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ の $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (和光純薬工業, 試薬特級) 水溶液を室温で滴下して調製した。なお両水溶液は混合前にアンモニア水により, pH を 10 から 10.2 の間に調整した。生成した HAp を水溶液中に分散させたまま, 1 dm^3 のテフロン製のビーカーに入れて 5 dm^3 のオートクレーブ中に設置し (図 1), テフロン製のかきまぜ棒で 1 分間に約 100 回かきまぜながら $100 \sim 200^\circ\text{C}$, 飽和水蒸気圧下で 10 時間水熱処理した。実験中に pH 値が低下しないようにビーカーとオートクレーブとの空間には pH 値 10 のアンモニア水を満たした。なお, 温度の制御はビーカーの外に設置した熱電対で行ない, 水熱処理温度はビーカーの内に設置した熱電対で直接測定した。昇温速度約 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ で加熱し, 温度は設定値 $\pm 2^\circ\text{C}$ 以内に制御した。得られた HAp はネスラー試薬でアンモニア水が検出されなくなるまで水洗し, 空气中 60°C で乾燥を行なった。

2.2 化学分析

合成した HAp の CaO 含量は EDTA 滴定, P_2O_5 含量はリンモリブデン酸塩法により定量分析した。

2.3 示差熱分析および熱重量測定

示差熱分析は合成した HAp 約 20 mg を理学電機 DTA-TG 高温型測定装置を用いて α -アルミナを標準物質とし, 昇温速度

東京工業大学工業材料研究所, 227 横浜市緑区長津田町

- 1) たとえば, 牧島亮男, 青木秀希, “バイオセラミックス”, 技報堂 (1984)。
- 2) R. Wallaey, *Ann. Chim.*, 7, 803(1952)。
- 3) 門間英毅, 金澤孝文, 日化, 1972, 339。
- 4) E. P. Egan Jr., Z. T. Wakefield, K. L. Elmore, *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 2418(1950)。
- 5) E. C. Moreno, T. M. Gregory, W. E. Brown, *J. Res. Nat. Bur. Stand.*, 72 A, 773(1968)。
- 6) A. Perloff, A. S. Posner, *Science*, 124, 583(1956)。
- 7) E. Hayek, J. Lechleitner, W. Böhler, *Angew. Chem.*, 67, 326(1955)。
- 8) J. F. Kirn, H. Leidheiser, *J. Cryst. Growth*, 2, 111 (1968)。
- 9) M. Menigo, M. L. Harvill, O. R. Gilliam, *ibid.*, 19, 199(1973)。
- 10) J. Arends, J. Schuthof, W. H. van den Linden, P. Bennema, *ibid.*, 46, 213(1979)。
- 11) 金澤孝文, 梅垣高士, 門間英毅, セラミックス, 10, 461 (1975)。

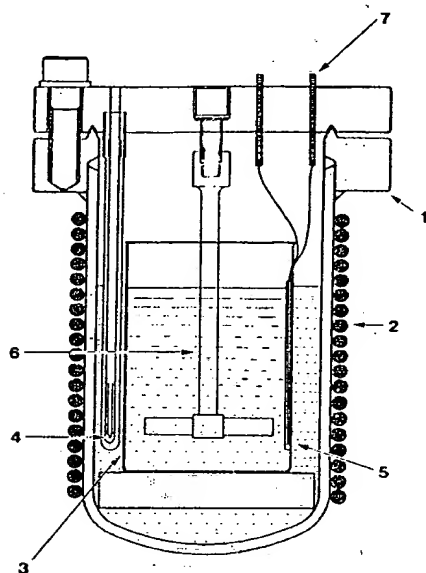


Fig. 1 Schematic illustration of reaction apparatus

1: Autoclave, 2: Heating coil, 3: Teflon beaker, 4: Thermocouple for temperature control, 5: Thermocouple for measurement, 6: Teflon stirrer, 7: Sealed electrode

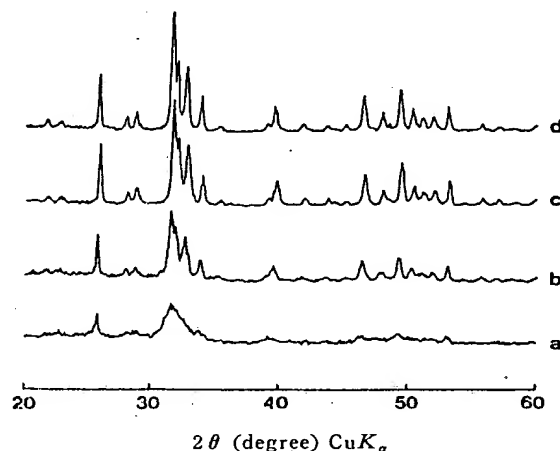


Fig. 2 X-Ray diffraction patterns of hydroxyapatite powders synthesized hydrothermally at various temperatures for 10 h

(a) as prepared at room temperature
(b) at 100°C under 0.1 MPa
(c) at 150°C under 0.5 MPa
(d) at 200°C under 2 MPa

10°C/min で行なった。熱重量測定では HAp 約 1g を白金のつばにとり、空气中 200~1200°C の各温度で 15 時間焼成して重量減少を測定した。

2.4 粉末X線回折

粉末X線回折 (XRD) は理学電機 RU-200 を用い、印加電圧 40 kV, 印加電流 80 mA で CuK α 線とカーボンモノクロメーターを使用した。格子定数測定では、走査速度 1/4°/min, 時定数 5 秒として金属 Si (金属科学研究所, 99.99%) を内部標準とし、Si の格子定数 $a=5.4301\text{Å}$ で $15^\circ < 2\theta < 70^\circ$ のすべての回折線について角度補正し、最小二乗法で格子定数を決定した。また、結晶子径は面指数 (002) ($2\theta=25.8^\circ$) および (300) ($2\theta=32.9^\circ$) の回折線の半値幅から Scherrer の式¹²⁾により算出した。

2.5 赤外吸収スペクトル

赤外吸収スペクトル (IR) は日本分光 FT-IR 3 型を用い、KBr 錠剤法で行なった。なお、走査回数は 300 回とした。

HAp 中に含まれる CO $_3^{2-}$ の定量には CaCO $_3$ を標準物質として吸光度を測定し、検量線を作成して用いた。

2.9 透過型電子顕微鏡観察

透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察は日立電子顕微鏡 H-700 を用い、加速電圧 200 kV で行なった。粒径分布は TEM 写真から約 250 個の粒子について計測して求めた。

3 結果と考察

3.1 生成粒子の特性

室温で湿式合成した HAp はゲル状の沈殿で、XRD による明

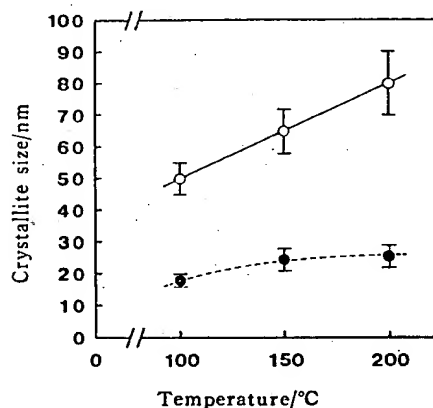


Fig. 3 Crystallite size of the hydroxyapatite crystals synthesized hydrothermally at various temperatures for 10 h

○: (002), ●: (300)

確な回折線は得られなかったが、この沈殿を水熱処理することによって HAp の結晶性がよくなることがわかった (図 2)。この HAp の面指数 (002) の回折線から求めた結晶子径は (300) の回折線から求めた結晶子径よりも大きく、このことはより高い水熱処理温度で顕著であった (図 3)。すなわち、六方晶系の HAp は、水熱処理により a 軸方向よりも c 軸方向により成長することがわかった。図 4 に種々の温度、飽和水蒸気圧下で 10 時間水熱処理した HAp の DTA 曲線を示す。100°C, 0.1 MPa および 150°C, 0.5 MPa で水熱処理した試料では吸着水の蒸発に起因する吸熱が約 70°C で認められ、また約 270°C で発熱が認められた。後者は無定形の HAp 前駆体が結晶化したためと考えられ、試料が不均一であることを示唆している。これに対して 200°C,

12) H. P. Klug, L. E. Alexander, "X-Ray Diffraction Procedures", John Wiley and Sons, New York (1974) p. 618.

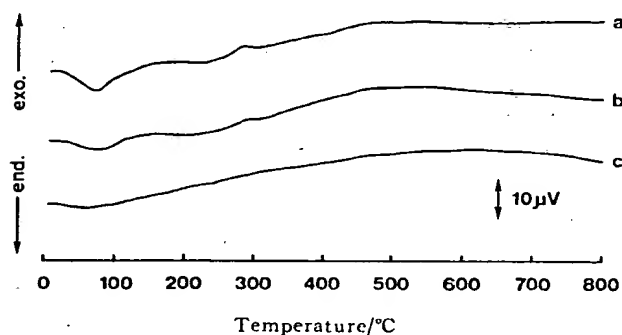


Fig. 4 DTA curves of hydroxyapatite crystals synthesized hydrothermally at various temperatures for 10 h

- (a) at 100°C, under 0.1 MPa,
(b) at 150°C, under 0.5 MPa,
(c) at 200°C, under 2 MPa

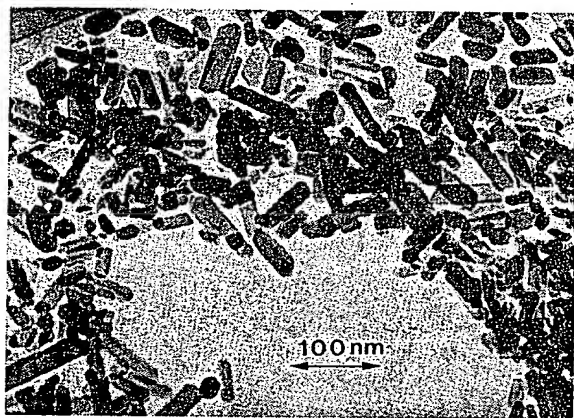


Fig. 5 TEM photograph of the hydroxyapatite fine crystals synthesized hydrothermally at 200°C, under 2 MPa for 10 h

2 MPa で処理した HAp では、上に述べたような発熱はまったく認められず、組成が均一であることを示していた。この条件下で 10 時間水熱処理した HAp の XRD から求めた格子定数は $a = 9.420 \pm 0.001 \text{ \AA}$, $c = 6.880 \pm 0.0005 \text{ \AA}$ であり、さきに報告されている Ca/P 比が化学量論比の 1.67 である HAp の格子定数の値¹⁰⁾ ($a = 9.426 \pm 0.003 \text{ \AA}$, $c = 6.880 \pm 0.003 \text{ \AA}$) にきわめてよく対応した。図 5 にこの HAp 微粒子の TEM 写真を示す。粒子は六角柱状で、暗視野像の観察から個々の粒子は単結晶体であることがわかった。大きさは短軸約 25 nm、長軸約 90 nm で、さきの結晶子径の大きさによく一致した。また、TEM 写真から求めたアスペクト比の分布は水熱処理温度の上昇につれて大きい方へ移動し、200°C で水熱処理した試料では正規分布に近い分布を示した (図 6)。またアスペクト比のメジアン値は 3.2 であった。

この試料の IR 測定から、典型的な HAp のパターンが得られたが、微量の CO_3^{2-} による吸収も認められた (図 7)。この CO_3^{2-} は空気中から混入したものと思われる。以上の結果から、一般に室温の湿式合成では粒子の性状を制御するのがむずかしいとされる HAp¹¹⁾ を水熱処理することにより、結晶性に優れた、

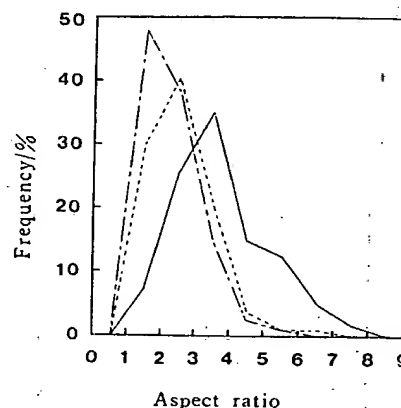


Fig. 6 Aspect ratio distribution of hydroxyapatite crystals synthesized hydrothermally at various temperatures for 10 h

- : at 100°C under 0.1 MPa,
... : at 150°C under 0.5 MPa,
— : at 200°C under 2 MPa

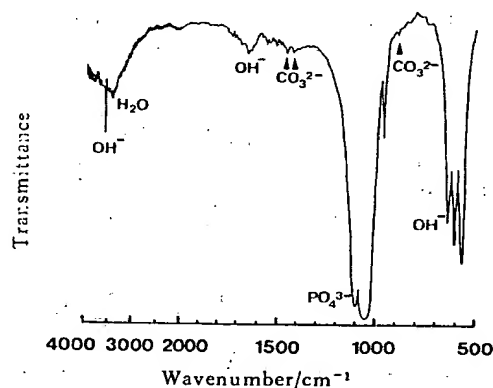


Fig. 7 Infrared spectra of the hydroxyapatite fine crystals synthesized hydrothermally at 200°C, under 2 MPa for 10 h

形状や大きさのそろった、粒度分布の狭い単結晶微粒子として合成できることがわかった。

3.2 水熱合成 HAp の加熱変化

200°C, 2 MPa, 10 時間で水熱合成した HAp の加熱試料の赤外吸収スペクトルを図 8 に示す。出発試料では認められた CO_3^{2-} に起因する吸収も 800°C 加熱試料ではほとんど認められず、また 1000°C 加熱試料では OH^- に起因すると考えられる 650 cm^{-1} 付近の吸収がかなり減少した。図 9 に加熱試料の格子定数を示す。格子定数 c は加熱によりほとんど変化しなかったが、格子定数 a および単位格子体積は加熱温度の上昇につれて減少する傾向が認められた。格子定数 a および単位格子体積の値は、IR 測定により CO_3^{2-} による吸収が認められなくなった 400~800°C の加熱でほぼ一定になった。また、800~1200°C で格子定数 a および単位格子体積はふたたび急激に減少したが、このことは OH^- の脱離によるものと考えられる。さらに加熱試料の (002) から求めた結晶子径、すなわち c 軸方向の結晶子径は 400°C まで増加したも

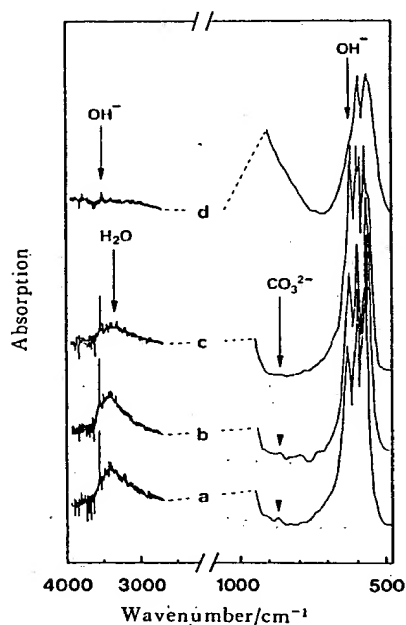


Fig. 8 Infrared spectra of hydroxyapatite crystals after heating at various temperatures for 15 h in air

- (a) as prepared at room temperature
- (b) 400°C
- (c) 800°C
- (d) 1000°C

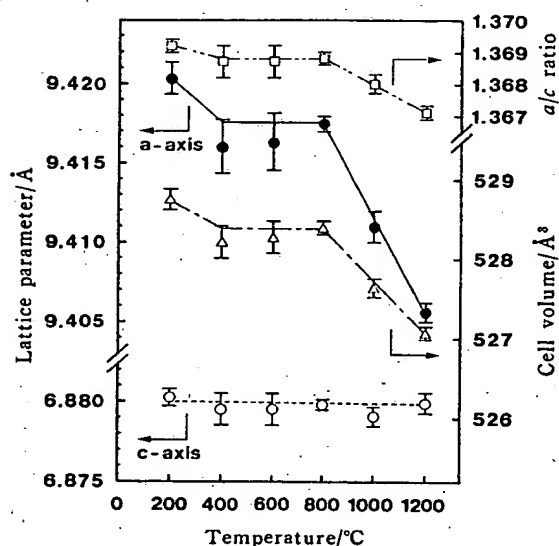


Fig. 9 Lattice parameters, cell volume and a/c ratio of the hydroxyapatite crystals after heating at various temperatures for 15 h in air

- : a -axis } lattice parameter
- : c -axis }
- : a/c ratio
- △ : Cell volume

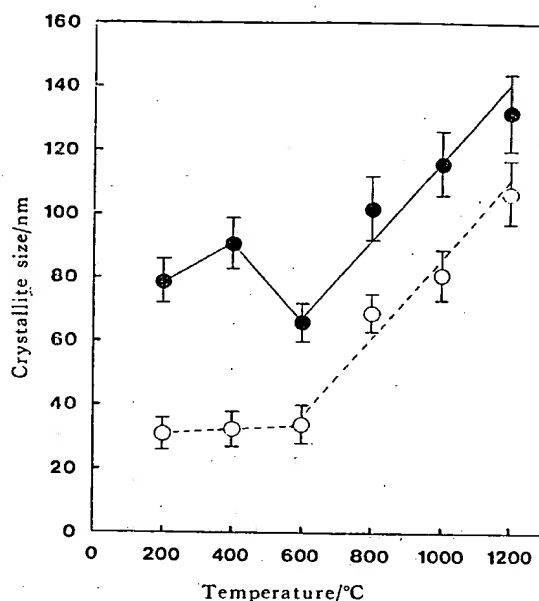


Fig. 10 Crystallite sizes of the hydroxyapatite crystals after heating at various temperatures for 15 h in air

- : (002), ○ : (300)

の、600°C でいったん減少し、ふたたび 1200°C まで増加した (図 10)。この 400~600°C での減少は、HAp 単結晶微粒子から CO_3^{2-} が脱離したことに起因すると考えられる。X線回折ピーク幅の広がり、結晶子の大きさ以外にも格子に存在するゆがみや積層欠陥が形成されていることなどに依存する¹²⁾。HAp の場合は、さらに粒子間の組成変動を挙げることができる。すなわち、Ca/P 比の異なる粒子では格子定数も異なり、このような粉末回折では回折ピーク幅の広がりとなって現われるはずである¹³⁾。Hall によれば、次式により結晶子径の影響と格子ひずみの影響とを分離できる¹²⁾。

$$\beta \cos \theta / \lambda = 1 / \eta + \epsilon \sin \theta / \lambda$$

ここで、 β はピークの広がり、 η は結晶子径、 ϵ はひずみ、 θ は回折角、 λ は X 線の波長 ($\text{CuK}\alpha$: 1.5405 Å) である。図 11 に 200°C、2 MPa、10 時間で水熱合成した HAp および 600°C、15 時間加熱試料について (002) および同じ方位関係にある (004) ($2\theta = 53.2^\circ$) の回折線の $\sin \theta / \lambda - \beta \cos \theta / \lambda$ のプロットを示す。200°C 水熱合成 HAp についてはひずみ ϵ に相当する直線の傾きは 0 であり、このことから生成した微結晶にはひずみがなく、また組成変動もないことがわかった。一方、600°C 加熱試料についても直線の傾きは同じく 0 であることから、 CO_3^{2-} の脱離によりひずみは導入されていないことがわかった。また、 CO_3^{2-} の脱離による格子定数 c の変化率 1.0×10^{-4} をすべてひずみと仮定しても、結晶子径の変化は 1 nm 未満であり、測定誤差範囲内に過ぎない。以上のことから、図 10 に示した 400~600°C での c 軸方向の結晶子径の減少は、単にひずみの導入によるものではない。

13) 吉村昌弘, 伏井康人, 虎谷秀穂, 田川智彦, 今井久雄, 宗宮重行, 窯協, 93, 548(1985)。

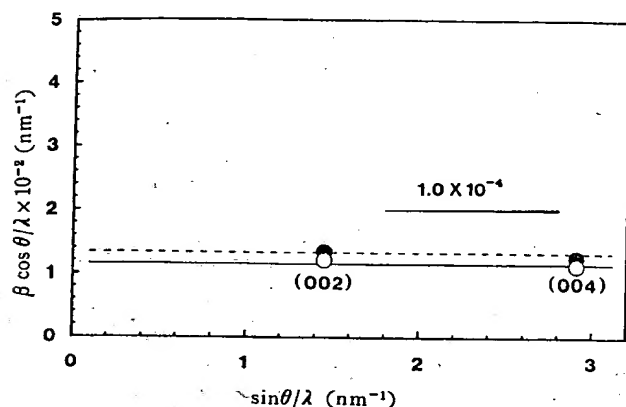


Fig. 11 Williamson-Hall Plot for hydroxyapatite synthesized hydrothermally.

- : As synthesized (no heating)
● : Heated at 600°C for 15 h in air

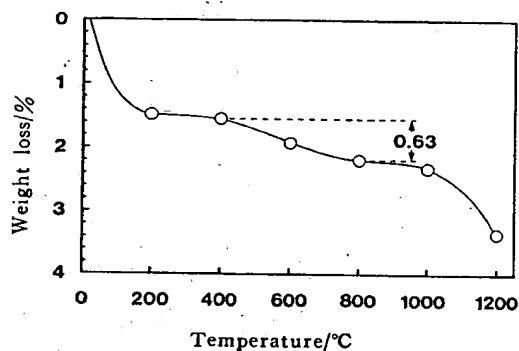


Fig. 12 Weight loss after heating at the indicated temperature for 15 h for the hydroxyapatite crystals synthesized hydrothermally at 200°C under 2 MPa for 10 h

く、結晶子の大きさそのものの減少と結論される。c 軸方向の結晶子径のみが減少することは、HAp のへき開が c 軸に垂直な面で起こりやすい、という事実にも対応している¹⁴⁾。一方、熱重量測定においても 200~400°C で重量変化はほとんど認められなかったが、400~800°C では約 0.63% の重量減少が認められた (図 12)。この減少もさきの IR および X 線回折の測定から、 CO_3^{2-} の脱離によるものと考えられる。

3.3 水熱合成 HAp に含まれる炭酸基

CO_3^{2-} は HAp の (PO_4) サイトあるいは (OH) サイトに存在することができるが¹⁵⁾、水熱合成 HAp の化学分析の結果 Ca/P 比が化学量論であったことから、 CO_3^{2-} は (OH) サイトにのみ存在すると考えられる。したがって、水熱合成 HAp の化学式は

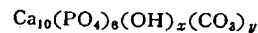
14) W. A. Deer, R. A. Howie, J. Zussman, "Rock-Forming Minerals" Vol. 5, William Clowes and Sons, London (1962) p. 323.

15) 金澤孝文, 門間英毅, 化学の領域, 27, 662(1973).

Table 1 CO_3^{2-} content of the hydroxyapatite fine crystals synthesized hydrothermally at 200°C, under 2 MPa for 10 h

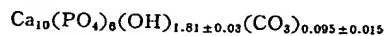
Method	CO_3^{2-} content/mol%
IR	11.0 ± 0.9
Weight loss	10.5 ± 1.5
Cell volume	7.0 ± 1.0

Composition : $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{1.81}(\text{CO}_3)_{0.095}$



$$y = (2 - x)/2$$

と設定できる。 CaCO_3 を標準物質として検量線を作成し、IR 測定により定量した結果と Elliott ら¹⁶⁾によって求められた単位格子体積に対する (OH) サイトに存在する CO_3^{2-} 量との関係から求めた結果、および 400~800°C の重量減少量を CO_3^{2-} の脱離によるものとして算出した結果を表 1 に示す。それぞれの結果はきわめてよく一致しており、水熱合成 HAp の化学式を下式として与えることができる。



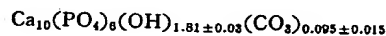
Arends ら¹⁰⁾¹⁷⁾は炭酸基が 0.1% 以上存在すると HAp 粒子の形態は針状晶が支配的になる、と報告しているが、このことは本実験結果によく対応している。本研究で得られたアパタイト超微細結晶の焼結性およびその特性については別報に報告している¹⁸⁾¹⁹⁾。

4 総 括

水熱法で HAp 超微粒子を合成した。X 線回折、TEM、IR などによりその性状を調べ、さらに加熱変化を検討することにより、以下の知見を得た。

(1) 湿式合成した HAp をオートクレーブ中で 200°C、2 MPa、10 時間の条件でかきまぜながら水熱処理すると、六角柱状の約 25 nm × 90 nm の大きさをもつ粒度分布の狭い、結晶性に優れた単結晶微粒子として合成できることがわかった。

(2) 200°C、2 MPa、10 時間の条件で水熱合成した HAp 微粒子の化学分析および加熱変化を調べることにより、HAp 微粒子中に含まれる微量の CO_3^{2-} は (OH) サイトに存在することがわかった。 CO_3^{2-} 量を IR 測定、単位格子体積の測定および熱重量測定を行なうことにより求め、以下の化学式を求めることができた。



16) J. C. Elliott, D. W. Holcomb, R. A. Young, *Calc. Tissue Int.*, 37, 325(1985).

17) W. L. Jongebloed, P. J. van den Berg, J. Arends, *Calc. Tissue Res.*, 15, 1(1974).

18) 井奥英二, 吉村昌弘, 宗宮重行, セラミックス論文誌, 96 (1), 109(1988).

19) K. Ioku, M. Yoshimura, S. Sōmiya, "Proceeding of International Symposium on Science and Technology of Sintering", Tokyo JAPAN, Nov. 4-6, (1987).

Hydrothermal Synthesis of Ultrafine Hydroxyapatite Single Crystals

Koji IOKU*, Masahiro YOSHIMURA and Shigeyuki SŌMIYA

*Research Laboratory of Engineering Materials and Department of Materials
Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology;
Nagatsuta, Midori-ku, Yokohama-shi 227 Japan*

Hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; HAp) ultrafine powders synthesized by a wet method were treated under hydrothermal conditions. The HAp particles obtained at 200°C under 2 MPa for 10 h were hexagonal prism-shaped fine single crystals, about 25 nm × 90 nm in size, the median aspect ratio obtained from the transmission electron micrograph was 3.2.

The quantitative chemical analysis, infrared (IR) spectra and X-ray diffraction (XRD), showed the presence of small amounts of CO_3^{2-} in the OH^- site. The HAp could be given by the formula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{1.81 \pm 0.03}(\text{CO}_3)_{0.005 \pm 0.015}$.
